

Determinación de valores normales de las hormonas T_3 y T_4 totales mediante radioinmunoanálisis en caninos sanos del Área Metropolitana del Valle de Aburrá

Carlos A. Morales, M.V.; Luis Rúa, M.V.

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Universidad de Antioquia, A. A. 1226, Medellín, Colombia.

(Recibido 7 febrero, 2000; aceptado 2 marzo, 2000)

Resumen

La medición de las hormonas tiroideas en el suero de caninos es una ayuda valiosa para el diagnóstico de hipotiroidismo canino, una de las endocrinopatías más importantes en esta especie a nivel mundial. Es necesario tener valores de referencia para los animales normales, antes de proferir cualquier diagnóstico de disfunción tiroidea. Los laboratorios encargados de esta medición deben establecer sus propios valores basados en la utilización de técnicas sensibles y específicas para la especie canina, utilizando un número representativo de muestras. Asimismo, estas mediciones deben considerar factores patológicos y no patológicos que afectan los niveles de estas hormonas. En este estudio se midieron los niveles de T_3 y T_4 en 340 muestras de sueros, provenientes de 176 caninos sanos, de ambos sexos, del área metropolitana del Valle de Aburrá. Para el efecto, se utilizaron kits de radioinmunoanálisis para caninos. Se establecieron los valores de referencia para ambas hormonas, en la totalidad de la muestra y en tres grupos de edad (menores de un año, entre un año y menores de seis y entre seis y once años) encontrándose diferencias significativas, con valores más altos de T_4 en los animales más jóvenes. Los animales estudiados pertenecen a razas con pesos menores de 15 kg. Dentro de las perspectivas que plantea este estudio se encuentra la necesidad de establecer los valores de referencia para animales de razas de mayor peso.

Palabras clave: Hipotiroidismo, tiroxina, tiroxinemia.

Introducción

Las enfermedades endocrinas que pueden afectar a los perros son diversas y algunos de sus signos pueden plantear confusiones que ameritan un muy buen diagnóstico diferencial antes de implementar cualquier alternativa terapéutica o quirúrgica. En hiperadrenocorticismos, hiposomatotropismo, hipotiroidismo y hiperestrogenismo, la presencia de alopecia bilateral, troncal y simétrica es característica (2,4). En estos casos, se hace imprescindible el uso del laboratorio clínico para la medición de los niveles

hormonales basales o después de estimulación, si se trata de pruebas dinámicas.

En nuestro medio hasta el momento, es costumbre enviar las muestras de suero canino, para la medición de los niveles de hormonas tiroideas y TSH a laboratorios clínicos humanos que utilizan kits para esta última especie, lo cual no garantiza una buena sensibilidad para los niveles en perros (2,5,7). Adicionalmente, aun utilizando los kits específicos, es menester establecer los valores de referencia para las condiciones particulares del laboratorio que realiza las pruebas (2, 3).

La función tiroidea se valora clásicamente mediante la medición de las concentraciones basales de HT ó evaluación de la respuesta glandular a la estimulación provocada por medio de TSH. Varios análisis hormonales son accesibles incluyendo tiroxinemia (T_4), T_4 libre (FT_4), T_3 , T_3 libre (FT_3) y T_3 inversa (rT_3). En el perro normal la mayor parte de HT secretada es T_4 , con solo escasa cantidad de T_3 y mínima liberación de rT_3 . Por tanto, la tiroxinemia es el mejor índice basal para evaluar la función tiroidea (2, 5).

En contraste, gran parte de la T_3 y rT_3 se forman mediante monodesyodinación de T_4 en sitios extratiroideos, con mayor predominio en hígado, riñón y músculo. En el plano tisular, la T_3 sería la hormona primaria responsable de los efectos fisiológicos debido a su mayor actividad biológica y volumen de distribución comparada con la T_4 , la monodesyodinación preferencial de T_4 en T_3 intracelular, y la presencia de receptores intracelulares específicos para T_3 . La T_4 se considera una prohormona, que se convierte en T_3 o rT_3 , dependiendo de las demandas metabólicas celulares en un momento particular. La T_3 es producida con preferencia durante los estados metabólicos normales, mientras que la rT_3 , la cual carece de actividad biológica, se origina cuando no se requiere accionar fisiológico. La concentración sérica de T_3 es un mal indicador de la función tiroidea debido a su localización intracelular predominante y la mínima cantidad de T_3 secretada por la tiroides en comparación con T_4 (2, 5).

En la circulación sanguínea la mayor parte (más del 99%) de T_4 y, en un grado algo menor, la T_3 , se unen a proteínas plasmáticas. La HT sin ligar o libre es la forma con actividad biológica. La hormona unida a proteína actúa como reservorio y amortiguador para mantener un nivel estable de HT libre en sangre a pesar de las rápidas alteraciones en la oferta de HT en los tejidos. La medición de las hormonas tiroideas libres en teoría mejoraría la precisión de la valoración funcional tiroidea, aunque este no ha sido el caso para la FT_4 (5).

La concentración sérica basal de T_4 es la suma de los niveles ligados a proteínas y libres circulantes en sangre. La medición de la tiroxinemia tal vez sea el modo más sencillo y menos costoso para la indagación inicial de la función tiroidea. La mayoría de los perros hipotiroideos tienen tiroxinemias menores de 1.5 microgramos/dl, mientras que los ejemplares sanos tie-

nen niveles mayores a esta cifra (5). Feldman y Nelson (2) reportan valores normales de 1.3 a 3.6 microgramos/dl, mientras que según Meyer y Harvey (3) las tiroxinemias normales van de 1.2 a 3.0 microgramos/dl. Muchas variables pueden afectar la tiroxinemia basal en un perro eutiroideo, causando a menudo una reducción espuria de la T_4 y el diagnóstico erróneo de hipotiroidismo (5).

En el nivel clínico es difícil juzgar que efecto tienen estas variables en especial las patologías concurrentes sobre la tiroxinemia. Como estas variables pueden suprimir la T_4 basal a menos de $1 \mu\text{g/dl}$ en un perro eutiroideo y los hipotiroideos rara vez tienen concentraciones mayores de 1.5 microgramos/dl, empleamos la tiroxinemia basal como medida de eutiroidismo. Una T_4 normal descarta un estado hipotiroideo en la mayoría de los perros (5).

Una concentración baja o marginal no es sinónimo de hipotiroidismo. Los estudios diagnósticos adicionales como nueva medición de T_4 , estimulación con TSH o respuesta a hormonoterapia substitutiva pueden estar indicados para establecer el diagnóstico definitivo (5). Con respecto a los efectos que ejercen la edad, el sexo y el tamaño corporal, un estudio de Reimers et al (11) en el cual se utilizaron 1074 perros, halló que los niveles de T_3 y T_4 son afectados por el tamaño corporal y la edad. De acuerdo a este mismo estudio el sexo no surte ningún efecto.

La concentración sérica basal de T_3 representa la suma de hormona ligada a proteínas y libre, circulante en sangre. Se ha comprobado que la medición de T_3 basal es de mínimo valor para evaluar la función tiroidea. Esta escasa confiabilidad se debe en parte al predominio de la secreción de T_4 por la tiroides normal y la localización intracelular primaria de T_3 (5). Los valores normales reportados por Feldman y Nelson (2) para T_3 están en un rango de 0.8 a 1.5 ng/ml (80 a 150 ng/dl). Meyer y Harvey (3), con permiso del Hospital Veterinario de la Universidad de la Florida, reportan valores entre 85 y 250 ng/dl. La medición de las concentraciones basales de FT_4 y FT_3 , en teoría, aporta una valoración más constante de las concentraciones basales de HT. El método estándar para la determinación de FT_4/FT_3 es la diálisis en equilibrio, un procedimiento de técnica difícil y que demanda mucho tiempo para ser empleado en un laboratorio endocrinológico comercial ocupado (5).

Como alternativa, existen métodos de RIA para medir los niveles de fT_4 y fT_3 . Lamentablemente los resultados obtenidos con muchos de estos RIA subestiman la fT_4 sérica cuando se comparan con el sistema de diálisis(5). La medición de fT_4 por radioinmunoanálisis ha mostrado poca o ninguna ventaja sobre la medición de T_4 total en el diagnóstico correcto de hipotiroidismo (6). Desde hace poco se cuenta con una técnica de diálisis en equilibrio modificada (*Nicholls Institute*, San Juan Capistrano, California.) mas adecuada para empleo comercial y que puede ofrecer una determinación más precisa de las hormonas tiroideas libres que los RIA disponibles en la actualidad (5).

La fT_4 sérica medida por RIA es afectada por enfermedades y farmacoterapias concurrentes, a menudo de manera similar que la tiroxinemia. Una fT_4 baja no es sinónimo de hipotiroidismo. La medición de fT_4 en sueros caninos no aporta información adicional sobre la función tiroidea que supere a la obtenida con la tiroxinemia. No se comunicaron estudios similares que certifiquen el valor de fT_3 sérica (5). Meyer y Harvey (3) afirman que la medición de fT_4 no es esencial pero puede ser una información útil. La medición de fT_4 concomitante con la medición de TSH es la prueba de elección en el diagnóstico de hipotiroidismo en humanos (7). No obstante, reportes preliminares sugieren que la medición de TSH en suero canino puede ser de menor utilidad que lo esperado. Se han encontrado valores elevados de TSH en un 60 - 80 % de perros con hipotiroidismo (1, 12) y en un 15% de perros eutiroides con enfermedades concurrentes (12).

La presente investigación utilizó *kits* de RIA canino con el propósito de determinar los valores de refe-

rencia para las hormonas T_3 y T_4 en el suero de perros sanos de ambos sexos y diferentes edades, del área metropolitana del Valle de Aburrá.

Materiales y métodos

Se realizaron un total de 340 análisis de laboratorio, durante julio de 1997 y julio de 1998, utilizando 176 sueros de caninos sanos de ambos sexos, del área metropolitana de Medellín, provenientes de 12 consultorios, centros y clínicas veterinarias y de propietarios que permitieron la toma y análisis de las muestras sanguíneas de sus mascotas.

Se incluyeron en el estudio razas con pesos menores de 15 Kgs (Tabla 1) y se distribuyeron en tres grupos de edad (Tabla 2). Dificultades relacionadas con la cantidad de suero obtenido explican el hecho de que en esta tabla, algunos animales aparezcan con un solo análisis (T_3 o T_4).

Para garantizar de forma rigurosa el estado de animal sano, se aplicó a cada paciente el protocolo de la Tabla 3, el cual permitió un tamizaje de los animales con patologías recientes o crónicas que pudieran afectar los niveles de las hormonas tiroideas, especialmente las descritas dentro del Síndrome del Enfermo Eutiroides y además los fármacos que pudieran surtir el mismo efecto (4, 5).

Con el propósito de no introducir una nueva variable, se descartaron aquellas hembras que se encontraron en un estadio reproductivo diferente al anestro (5,9).

Tabla 1. Razas incluidas en el estudio.

Raza	Número de animales
Poodle miniatura	92
Poodle Toy	12
Schnauzer miniatura	17
Pug	5
Pequinés	5
Pinscher miniatura	3
Pomerania	1
Yorkshire Terrier	1
Fox Terrier pelo liso	3
Shi Tzu	5
Beagle	2
Mestizos	30
Total	176

Tabla 2. Número de animales por edad y por prueba.

Edad*	T ₃	T ₄
Menores de 1 año - grupo A	65	56
Entre 1 y menores de 6 años - grupo B	59	58
Entre 6 y 11 años - grupo C	52	50

Tabla 3. Protocolo para medición de niveles sanguíneos de T₃ y T₄ en caninos sanos.

Datos del propietario _____				
Nombre _____				
Dirección _____		Ciudad _____		Teléfono _____
DATOS DEL PACIENTE:				
Nombre _____		Nº _____	Edad: _____	Sexo: M ___ H ___
Raza _____		Peso: _____	Diestro _____	Anestro _____
			Pseudogestación _____	
			Gestación _____	
Nombre	Tiempo	Enfermedad	Tiempo	Tiempo
Glucocorticoides _____	_____	Bronconeumonía Bacteriana	_____	_____
Fenilbutazona _____	_____	Moquillo	_____	_____
Fenitoina _____	_____	Anemia Hemolítica Autoinmune	_____	_____
Salicilatos _____	_____	Lupus Eritematoso Sistemico	_____	_____
Diazepam _____	_____	Enfermedad De Discos Intervertebral	_____	_____
Primidona _____	_____	Polirradiculitis	_____	_____
Furosemida _____	_____	Demodicosis Generalizada	_____	_____
Metimazol _____	_____	Furunculosis Generalizada	_____	_____
Otros _____	_____	Linfosarcoma	_____	_____
_____	_____	Insuficiencia Renal Crónica	_____	_____
_____	_____	Insuficiencia Cardíaca Congestiva	_____	_____
_____	_____	Diabetes Mellitus	_____	_____
_____	_____	Cushing	_____	_____
_____	_____	Blastomiosis	_____	_____
_____	_____	Otras _____	_____	_____

Las muestras se tomaron por venopunción de la vena cefálica o yugular en horas de la mañana. Se tomaron entre 3 y 5 ml. por animal, sin coagulante. Dichas muestras se centrifugaron a 3500 r.p.m., durante 10 minutos, obteniéndose el suero para análisis inmediato o congelación a -20° centígrados para su posterior análisis, dependiendo de la disponibilidad logística del laboratorio.

Para los análisis de laboratorio se utilizaron los kits comerciales de RIA Coat-A-count, Canine T₄ y Coat-

A-count, Canine T₃ de la casa productora DPC (Diagnostics Products Corporation). El principio de la técnica se basa en un radioinmunoanálisis en fase sólida en el cual T₃ o T₄ marcada con ¹²⁵I compete con la T₃ o T₄ de la muestra del paciente. Esta reacción ocurre en presencia de agentes bloqueadores que permiten la liberación de T₃ y T₄ de sus proteínas transportadoras. Para las cuentas radiactivas se utilizó un contador de centelleo modelo ABBA LOGIC, marca ABBOT, propiedad del LABORATORIO CLÍNICO COLOMBIANO, Medellín.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa *Statgraphics 6.0*, mediante el cual se determinaron las medidas de tendencia central y se realizaron los análisis de varianza.

Resultados

Los promedios, el error estándar y los valores mínimos y máximos de las hormonas T_3 y T_4 en los grupos estudiados, aparecen en las Tablas 4 y 5. En las mismas también se puede apreciar el comportamiento comparativo de los promedios al aplicar los análisis de varianzas.

La Tabla 6 muestra los promedios, las desviaciones estándar, los errores estándar, los valores máximo y mínimo y los coeficientes de variación para el total de las muestras.

Discusión

Los valores hallados para estas hormonas, tanto por grupos de edad, como en la totalidad de la muestra se ubicaron en su gran mayoría dentro de los valores esperados de acuerdo a la casa productora de los kits (T_3 : 50 - 180 ng/dl; T_4 : 0.73 - 2.9 μ g/dl). Sin embargo, fue necesario ampliar los límites para T_3 por cuanto un individuo del grupo C mostró un valor de 49 ng/dl para T_3 , constituyéndose en el valor mínimo para esa edad y para la totalidad de las muestras. Lo mismo ocurrió para el límite superior el cual se amplió hasta 230 ng/dl. Meyer y Harvey (3), reportan un límite superior de 250 ng/dl. En el caso de T_4 , las tres edades mostraron unos pocos individuos superando los límites propuestos por la casa productora, lo cual llevó también a una ampliación del valor máximo (ver tablas 4 y 5).

Tabla 4. Resultados de los valores de la hormona T_3 en los grupos caninos del estudio

Grupo	n	Promedio (ng/dl)	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo
A	65	107.84	4.58	50	180
B	59	114.70	4.08	55	230
C	52	96.69	3.43	49	145

Los promedios fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$), al comparar el grupo B con el grupo C

Tabla 5. Resultados de los valores de la hormona T_4 en los grupos caninos del estudio

Grupo	n	Promedio (μ g/dl)	Error estándar	Valor mínimo	Valor máximo
A	56	2.43	0.088	0.87	3.6
B	58	1.93	0.082	0.70	3.1
C	50	1.85	0.098	0.80	3.8

Los promedios fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$), al comparar el grupo A con el grupo B y el grupo C

Tabla 6. Resultados de los valores de hormonas T_3 y T_4 en todos los caninos estudiados

	T_3	T_4
Tamaño de muestra	162	151
Promedio	103.59	2.06
Desviación estándar	28.43	0.71
Error estándar	2.23	0.05
Coefficiente de variación	27.45	34.82
Valor mínimo	49.0	0.7
Valor máximo	180.0	3.8

Feldman y Nelson (2) reportan tiroxinemias normales de 1.3 a 3.6 microgramos/dl. Adicionalmente, la casa productora sugiere la posibilidad de dicha ampliación, dependiendo de las condiciones particulares del laboratorio y de la población. En relación a los análisis de varianzas, se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos B y C para T_3 , siendo mayores los niveles en los animales de edades comprendidas entre 1 y menos de 6 años (grupo B), discrepando con los resultados de Reimers et al (11), que mostraron niveles mayores en el grupo C (6-11 años). Para el caso de T_4 , se aprecia diferencia significativa entre A y B y entre A y C, pero no entre B y C. Los dos primeros hallazgos coinciden con los resultados del mismo trabajo que arrojaron mas altos niveles en los animales mas jóvenes, especialmente entre 1 y 6 semanas de edad. La ausencia de diferencia estadística entre B y C, en nuestro caso, se puede explicar posiblemente por la presencia de un número importante de animales con edades cercanas a los límites entre B y C.

En el presente estudio no se tuvo en cuenta la variable sexo, por cuanto el citado trabajo de Reimers et al (11), mostró la ausencia de diferencia estadística para esta variable. No obstante, hacia el futuro se

hace necesario comprobar este hallazgo para nuestro medio. Los efectos del sexo y el estado reproductivo de las hembras sobre la función tiroidea han sido estudiadas en ratas, perros, caballos y humanos. Sin embargo, los resultados han sido contradictorios aun entre las mismas especies (11). En perros las concentraciones de T_4 fueron mas altas en hembras en diestro y preñez que en anestro, proestro y lactancia (9).

El estudio de Reimers et al (11), también mostró diferencias significativas de acuerdo al peso de los animales, con la presencia de mayores niveles de T_4 en los animales de razas consideradas de tamaño pequeño (promedio: 7.2 kgs). La presente investigación sólo consideró razas con pesos menores de 15 kgs., por lo cual se plantea como una perspectiva ineludible, la determinación de valores de referencia en nuestro medio para razas de mayor peso.

En conclusión, este estudio coincide con otros, en el hecho de identificar factores no patológicos que pueden afectar los niveles de T_3 y T_4 , como es el caso de la edad de los animales. Adicionalmente, se establecen unos valores de referencia para ser utilizados en la práctica clínica de los pequeños animales.

Agradecimientos.

Los autores expresan sus agradecimientos al Comité para el Desarrollo de la Investigación de la Universidad de Antioquia y al Laboratorio Clínico Colombiano, LABCO, por su valioso apoyo en la cofinanciación de esta investigación.

Summary

Determination of normal values of total T_3 and T_4 hormones through radioimmunoanalysis in healthy canines in the city of Medellin, Colombia.

The measurement of thyroid hormones in canine serum is a valuable technique for the hypothyroidism, one of the most important endocrinopathies in this species at the world. It is required to have reference values for normal animals, rather than to give any diagnosis of thyroid dysfunction. Commissioned laboratories to realized the measurement must establish its own values based on specific and sensible techniques for canine species, using a representative number of samples. Therefore, the measurement consider pathologic and non pathologic factors that affect hormones levels.

This research obtained measurements for T_3 and T_4 levels in 340 samples of serum from 176 healthy canines, from both sexes in the city of Medellin, Colombia. For such measurement a radioimmunoanalysis kit for canines was used. Reference values were

established for both hormones, in the whole sample and three age groups. Significant differences were founded with higher values of T_4 in younger animals. Animals studied had weight less than 15 Kg. However, perspectives of this work are need to establish reference values for breeds with higher weight.

Referencias.

1. Dixon RM. Graham PA. Mooney CT. Serum thyrotropin concentration: A new diagnostic test for canine hipotiroidism. *Vet. Rec.* 1996; 138: 594 - 595
2. Feldman EC. Nelson RW. *Endocrinología y Reproducción Canina y Felina.* Intermédica, 1991. 629p.
3. Meyer DJ. Harvey JW. *Veterinary Laboratory Medicine.* Second Edition. W.B. Saunders Company, 1998. 373 p.
4. Muller GH. Kir RW. Scott DW. *Dermatología en pequeños animales.* Editorial Intermédica, 1991. 1068p.
5. Nelson RW. Couto CG. *Pilares de Medicina Interna en animales pequeños.* Intermédica, 1995. 977p.
6. Nelson RW. Ihle SL. Feldman EC, Bottoms GD. Serum free thyroxine concentration in healthy dogs, dogs with hypothyroidism and euthyroid dogs with concurrent illness. *JAVMA.* 1991; 198: 1401-1407.
7. Panciera DL. *Veterinary Medicine.* 1997; 92(1): 50 - 57
8. Radiofky MA. Clinical relevance of results from the new specific endogenous TSH assay: a review of 79 cases. *Ann Mat. Am. Acad. Vet. Dermatol and Am Coll Vet. Dermatol.* 1988.
9. Reimers TJ. Mummery LK. Mc Cann JP. Effects of reproductive state on concentrations of thyroxine, 3,5,3'-triiodothyromine and cortisol in serum of dogs. *Biol. Reprod.* 1984; 31: 148 - 154.
10. Reimers TJ. McGarraty M.S. Strickland D. Effect of fasting on thyroxine, 3,5,3'-triiodothyronine and cortisol concentrations in serum of dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1986; 47(12): 2485 - 2489.
11. Reimers TJ. Lawler DF. Sutari PM. Correa MT. Effects of age, sex and body size on serum concentrations of thyroid and adrenocortical hormones in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1990; 51(3): 454 - 457.12.
12. Scott-Moncrieff JC. Serum canine thyrotropin concentration (cTSH) in euthyroid, hypothyroid and sick euthyroid dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 1996; 10: 186.